

УДК 616-092.9/.4:546.73

**Ушкалов В.О.**, член.-кор. НААН, докт. вет. наук, професор,**Турко Я.І.**, аспірант ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького, Львів, Україна*

### **ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ГОСТРОГО ТОКСИКОЛОГІЧНОГО ЕКСПЕРИМЕНТУ З ВИКОРИСТАННЯМ НАНОКОБАЛЬТУ**

*В роботі встановлено вплив наночасток Кобальту на деякі показники стану імунної системи та гемопоезу в дозовому діапазоні на моделі лабораторних тварин за умов гострого токсикологічного експерименту.*

*За гострого токсикологічного експерименту на білих щурах встановлено зміни показників гемопоезу за впливу наночасток Кобальту, які були більші виражені в крові щурів, що одержували препарат у дозах 70, 35, 10 і 5 мг/кг маси тіла, що вказує на прояв токсичної дії та вибірково дозову тропність наночасток металу і незбалансованість процесів власної детоксикації в організмі тварин. Механізми розвитку ендотоксикозу в організмі дослідних щурів полягають у імуносупресії на фоні розвитку гіпоальбумінемії та гіпопротеїнемії, лейкоцитозу із еритроцитопенією на тлі зростання рівня серомукоїдів.*

*У організмі тварин, що одержали одноразово наночастки Кобальту у дозах 1,00 і 0,50 мг/кг маси тіла, вищевказані прояви отруєння були менш виражені або частково не виявлялись. Даний факт можна пояснити індукцією в організмі щурів дослідних груп адаптаційно-компенсаторних механізмів завдяки, очевидно, вивільненню ресурсів власних детоксикаційних систем та гемопоетичним впливом саме Кобальту.*

*За результатами проведення гострого експерименту на моделі лабораторних тварин встановлено, що дослідні наночастки Кобальту у дозах 0,10 і 0,05 мг/кг маси тіла мали найвищу біосумісність.*

**Ключові слова:** *наночастки Кобальту, гостра токсичність, кров, білки, гемоглобін, еритроцити, лейкоцити, серомукоїди, щурі.*

УДК 616-092.9/.4:546.73

**Ушкалов В.А.**, член.-корр. НААН, докт. вет. наук, професор,**Турко Я.И.**, аспірант*Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З.Гжицкого, Украина*

### **ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КРОВИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОКОБАЛЬТУ**

*В работе установлено влияние наночастиц Кобальта на некоторые показатели состояния иммунной системы и гемопоеза в дозированном*

диапазоне на модели лабораторных животных в условиях острого токсикологического эксперимента.

При остром токсикологическом эксперименте на белых крысах установлено изменения показателей гемопоэза при воздействии наночастиц Кобальта, которые были более выражены в крови крыс, получавших препарат в дозах 70, 35, 10 и 5 мг/кг массы тела, что указывает на проявление токсического действия и выборочную дозированную тропность наночастиц металла и несбалансированность процессов собственной детоксикации в организме животных. Механизмы развития эндотоксикоза в организме исследуемых крыс заключаются в иммуносупрессии на фоне развития гипоальбуминемии и гипопротейнемии, лейкоцитоза с эритроцитопенией на фоне роста уровня серомукоидов.

В организме животных, получивших однократно наночастицы Кобальта в дозах 1,00 и 0,50 мг/кг массы тела, вышеуказанные проявления отравления были менее выражены или частично не выявлялись. Данный факт можно объяснить индукцией в организме крыс исследовательских групп адаптационно-компенсаторных механизмов, очевидно, благодаря высвобождению ресурсов собственных детоксикационных систем и гемопоэтического влияния кобальта.

По результатам проведения острого эксперимента на модели лабораторных животных установлено, что опытные наночастицы кобальта в дозах 0,10 и 0,05 мг/кг массы тела имели самую высокую биосовместимость.

**Ключевые слова:** наночастицы кобальта, острая токсичность, кровь, белки, гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, серомукоиды, крысы.

UDC 616-092.9/.4:546.73

**Ushkalov V.**, corresponding member of NAAS, Doctor of Veterinary Sciences,  
professor

**Turko Ya**, graduate student,

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after  
S.Z.Gzhytskyu, Lviv, Ukraine

#### **HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD MARKERS OF RATS BLOOD FOR ACUTE RAT TOXICOLOGICAL EXPERIMENT USING NANOCOBALT**

*The work deals with the influence of cobalt nanoparticles on some parameters of the immune system and hematopoiesis in the dose range on the model of laboratory animals under conditions of acute toxicological experiment.*

*For acute toxicological experiment on white rats it was found changes in rates of hematopoiesis under the influence of cobalt nanoparticles, which were more pronounced in the blood of rats that received the drug in doses of 70, 35, 10 and 5 mg / kg body weight, indicating the manifestation of toxic effects and random dose of tropism metal nanoparticles and processes imbalance of own detoxification processes in animals. Development mechanisms of endotoxemia in rats are in immunosuppression on the background in the development of hypoproteinemia and hypoalbuminemia, leukocytosis with erythrocytopenia to rising levels seromucoid.*

*In animals body that received a single dose of cobalt nanoparticles at doses of 1.00 and 0.50 mg/kg of body weight, the above signs of poisoning were less pronounced or partly not found. This fact can be explained by induction in rats of experimental groups of adaptive-compensatory mechanisms due to apparently release the resources of its own detoxification systems and hematopoietic influence is cobalt.*

*As a result of acute experimental model of laboratory animals it was found that research cobalt nanoparticles at doses 0.10 and 0.05 mg/kg body weight had the highest biocompatibility.*

**Key words:** *cobalt nanoparticles, acute toxicity, blood, proteins, hemoglobin, erythrocytes, leukocytes, seromucoid, rats.*

**Вступ.** За період існування організм піддається дії цілого комплексу несприятливих факторів, які впливають на нормальне функціонування основних систем життєдіяльності. З однієї сторони це порушення годівлі, токсикози, інфекційні та інвазійні чинники, а з іншої – масове безконтрольне застосування хіміотерапевтичних препаратів, в тому числі антибіотиків, фуранових та сульфаніламідних препаратів, антигельмінтиків тощо [1,5]. Все це, у свою чергу, негативно впливає на стійкість організму до захворювань, сприяє розвитку імунодефіцитного стану і підвищує чутливість до інфекційних хвороб.

У зв'язку з цим проблема розробки нового покоління профілактичних засобів, які б володіли корегуючою дією стосовно гомеостазу організму, є актуальною і її вирішення дає можливість підвищити ефективність профілактики, боротьби з патологіями та підвищення продуктивності [2].

У цьому плані цікавими були б дослідження стосовно препарату нанокобальту, який володіє високою гематопротекторною, імуномодулюючою та біостимулюючою дією [3,5].

Мета роботи – визначити вплив наночасток Кобальту на деякі показники стану імунної системи та гемопоезу в дозовому діапазоні на моделі лабораторних тварин за умов гострого токсикологічного експерименту.

**Матеріал та методи дослідження.** У роботі використовували дослідний зразок наночасток Кобальту (Нч Со), середнього розміру (~100,0±10,0 нм), виготовлений за оригінальною методикою фахівцями Інституту біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України.

Гострий токсикологічний експеримент було проведено на статевозрілих щурах-самцях (n=45) лінії *Vistar* масою (160-180) г. За принципом аналогів було сформовано 9 груп тварин по 5 щурів у кожній (одну контрольну і 8 дослідних). Щурам контрольної групи внутрішньошлунково за допомогою зонда вводили дистильовану воду в об'ємі 2,0 см<sup>3</sup>; щурам I дослідної групи вводили розчин наночасток Кобальту у дозі 70,00 мг/кг маси тіла (максимально можлива введена доза), II дослідної групи – 35,00 мг/кг, III – 10,00 мг/кг, IV – 5,00 мг/кг, V – 1,00 мг/кг, VI – 0,50 мг/кг, VII – 0,10 і VIII – 0,05 мг/кг маси тіла відповідно. Термін спостереження за дослідними тваринами складав 14 діб.

З метою визначення біосумісності дослідного зразка наночастинок металу у плазмі крові експериментальних тварин досліджували рівень загального білка, альбумінів та глобулінів, циркулюючих імунних комплексів середньої молекулярної маси (ЦІК) та серомукоїдів (Sm).

У цільній крові експериментальних тварин проводили визначення кількості формених елементів, загального гемоглобіну (Hb) та лейкоцитів за загальноприйнятими методами.

Результати досліджень обробляли статистично з використанням пакету програм Microsoft Excel 2003, вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента.

**Результати дослідження.** Виходячи з вищезазначеного, було доцільним оцінити функціональний стан органів-мішеней експериментальних щурів під впливом наночастинок Кобальту у визначеному діапазоні доз за дослідженням системних гематологічних і біохімічних критичних маркерів у крові тварин.

Визначенням гематологічних показників (табл. 1) у щурів I-IV дослідних груп (70, 35, 10 і 5 мг/кг маси тіла) було встановлено, що одноразове введення НчСо на 14-ту добу експерименту викликало розвиток лейкоцитозу в середньому до 34,8 %, гальмування еритропоезу в середньому – на 27,2 % поряд зі зниженням вмісту загального гемоглобіну (Hb) – на 15,2 % ( $p \leq 0,05$ ) відповідно відносно значень цих показників у крові контрольних тварин.

Таблиця 1

**Рівень лейкоцитів, еритроцитів та загального гемоглобіну в крові білих щурів за одноразового перорального введення розчинів наночастинок Кобальту у дозовому діапазоні на 14-ту добу експерименту ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).**

| групи | Група тварин   | Лейкоцити,<br>$10^9/\text{дм}^3$ | Еритроцити,<br>$10^{12}/\text{дм}^3$ | Загальний Hb <sup>2</sup> ,<br>г/дм <sup>3</sup> |
|-------|--|----------------------------------|--------------------------------------|--|
| К     | Контроль   | 10,64±0,80                       | 8,05±0,16                            | 123,05±5,16                                      |
| I     | Нч <sup>1</sup> Со – у дозі<br>70,00 мг/кг маси тіла | 16,48±0,64*                      | 5,17±0,22*                           | 108,08±10,20*                                    |
| II    | Нч Со – у дозі<br>35,00 мг/кг маси тіла              | 13,76±0,88*                      | 6,09±0,20*                           | 103,80±12,05*                                    |
| III   | Нч Со – у дозі<br>10,00 мг/кг маси тіла              | 13,60±1,12*                      | 6,13±0,33*                           | 99,80±6,78*                                      |
| IV    | Нч Со – у дозі<br>5,00 мг/кг маси тіла               | 12,20±0,40*                      | 6,71±0,26                            | 116,00±5,23*                                     |
| V     | Нч Со – у дозі<br>1,00 мг/кг маси тіла               | 11,22±0,88                       | 7,92±0,50                            | 113,90±8,56                                      |
| VI    | Нч Со – у дозі<br>0,50 мг/кг маси тіла               | 10,88±0,80                       | 7,86±0,22                            | 107,20±10,60                                     |
| VII   | Нч Со – у дозі<br>0,10 мг/кг маси тіла               | 10,08±0,76                       | 8,49±0,26                            | 133,60±2,33                                      |
| VIII  | Нч Со – у дозі<br>0,05 мг/кг маси тіла               | 10,20±0,84                       | 8,11±0,30                            | 128,10±8,06                                      |

**Примітки:**

1. Нч Со – розчин дослідного зразка наночастинок Кобальту;

2. Hb – гемоглобін;

\* – різниця значень вірогідна при  $p \leq 0,05$  відносно значень такого показника у контрольних тварин.

З результатів досліджень, наведених у таблиці 1 видно, що на 14-ту добу досліджень у крові щурів I дослідної групи, що одержали максимально введену дозу H<sub>2</sub>Co (70,00 мг/кг маси тіла), відсоток вірогідного підвищення рівня лейкоцитів сягав 54,9 % та зниження вмісту еритроцитів і загального Hb – 35,8 і 12,2 % відповідно у порівнянні з рівнем цих показників у тварин контрольної групи.

З даних таблиці також встановлено, що на 14-ту добу досліду спостерігали тенденцію до зростання кількості лейкоцитів і зниження рівня загального гемоглобіну в крові тварин V дослідної групи, а у щурів VI – VIII дослідних груп – значення досліджених показників не набували вірогідних змін відносно їх контрольних рівнів. Отримані дані вказують на дозозалежну тропність наночасток Кобальту відносно гемопоезу в організмі дослідних щурів.

У таблиці 2 наведені результати досліджень показників білкового профілю плазми крові та стану неспецифічної резистентності щурів, що одноразово одержували розчини H<sub>2</sub>Co у дозовому діапазоні.

Таблиця 2

**Стан показників білкового профілю та неспецифічної резистентності у плазмі крові щурів за одноразового перорального введення розчинів наночасток Кобальту у дозовому діапазоні на 14-ту добу експерименту (M±m; n=5).**

| Група тварин | Загальний білок, г/дм <sup>3</sup> | Альбуміни, г/дм <sup>3</sup> | Глобуліни, г/дм <sup>3</sup> | A/Г  | ЦК, мг/см <sup>3</sup> | Sm, мг/см <sup>3</sup> |
|--------------|------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------|------------------------|------------------------|
| K            | 73,47±1,23                         | 38,90±0,93                   | 34,57±1,50                   | 1,13 | 0,07±0,01              | 0,10±0,01              |
| I            | 62,00±1,00*                        | 22,10±0,63*                  | 40,90±0,50*                  | 0,54 | 0,10±0,01*             | 0,15±0,01*             |
| II           | 73,63±1,93                         | 33,03±1,30*                  | 40,60±1,32*                  | 0,81 | 0,12±0,02*             | 0,14±0,01*             |
| III          | 72,60±0,83                         | 31,77±0,55*                  | 40,83±0,70*                  | 0,78 | 0,09±0,01*             | 0,13±0,01*             |
| IV           | 70,35±3,00                         | 31,90±0,05*                  | 38,45±1,20*                  | 0,83 | 0,08±0,02              | 0,14±0,01*             |
| V            | 72,53±2,38                         | 36,33±0,75*                  | 36,20±0,50                   | 1,00 | 0,08±0,01              | 0,14±0,02*             |
| VI           | 70,10±0,77                         | 39,30±0,75                   | 30,80±1,00                   | 1,28 | 0,055±0,01             | 0,109±0,01             |
| VII          | 72,83±2,55                         | 37,23±1,50                   | 35,60±1,50                   | 1,05 | 0,068±0,01             | 0,100±0,01             |
| VIII         | 72,87±0,93                         | 37,27±2,05                   | 35,60±0,10                   | 1,05 | 0,065±0,01             | 0,099±0,02             |

**Примітка.** \* – різниця значень вірогідна при ( $p \leq 0,05$ ) відносно значень такого показника у контрольних тварин.

Так, одержані результати свідчать, що через 14 діб після одноразового введення H<sub>2</sub>Co лише у плазмі крові щурів I дослідної групи відбувалось вірогідне зниження вмісту загального білка в середньому на 15,6 % відносно контрольних значень. Це позначилось й на кількісному перерозподіленні білкових фракцій, а саме – зниженні рівня альбумінів та підвищенні рівня загальних глобулінів у середньому на 45,2 та 18,3 % ( $P < 0,05$ ), та відповідному зниженні значення альбумін/глобулінового коефіцієнту в 2,1 рази.

У плазмі крові щурів II-IV дослідних груп, навпаки, на фоні нормальних (фізіологічних) значень вмісту загального білка встановлювали аналогічні тваринам I групи за тенденцією зміни у кількісному співвідношенні білкових фракцій. Такий тип протеїнограми вказує на індукування імунної відповіді в організмі дослідних щурів внаслідок введення наночасток Кобальту у дозовому діапазоні. За даними Степашкиной К.І. [8], загальний білок крові є досить стабільним показником, що досягається за рахунок наявності пулу резервного білку та потужності системи регуляторних механізмів.

Рівень альбумінів у крові щурів V дослідної групи був зниженим внаслідок введення НчСо, але це не позначилось на кількості загальних глобулінів та на співвідношенні цих фракцій.

Значення рівня загального білка, альбумінів, загальних глобулінів та альбумін/глобулінового коефіцієнту в плазмі крові щурів VI-VIII дослідних груп внаслідок введення НчСо не набували статистично значимих відхилень від контрольного рівня цих показників.

У плазмі крові щурів I-V дослідних груп також реєстрували суттєве підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси відносно їх контрольних значень в середньому від 14,3 % до 71,4 % ( $p \leq 0,05$ ). Відомо, що утворення імунних комплексів – фізіологічних продуктів реакції антиген-антитіло, є частиною захисних імунних механізмів, тобто одним з компонентів імунної відповіді. Рівень продукції ЦІК відображає фази розвитку запального процесу і свідчить про взаємозв'язки з клінічним перебігом патології. Тобто надмірне утворення ЦІК в кінці гострого захворювання, свідчить про несприятливий прогноз та зумовлено активацією гуморального імунітету і надходженням антигену в кров [6,7].

Поряд з цим, було визначено, що внаслідок одноразового потрапляння НчСо у дозах 70, 35, 10, 5 і 1 мг/кг маси тіла (I-V дослідні групи) рівень утворення білків підгострої фази – патологічних білків-супресорів – серомукоїдів (Sm) був вірогідно підвищеним у середньому на (30 – 50) % відносно їх контрольних значень. Одержані результати, у сукупності з даними динаміки кількості лейкоцитів та показників еритропоезу, переконливо свідчать про розвиток імуносупресії в організмі щурів I-V дослідних груп через 14 діб після перорального введення дослідного зразка НчСо у дозах 70, 35, 10, 5 і 1 мг/кг маси тіла та дозозалежну тропність дослідних наночасток металу.

**Висновки.** Таким чином, зміни показників гемопоезу за впливу наночасток Кобальту, були більш вираженими в крові щурів, які їх одержували у дозах 70, 35, 10 і 5 мг/кг маси тіла, що вказує на прояв токсичної дії та вибірккову дозову тропність наночасток металу і незбалансованість процесів власної детоксикації в організмі тварин. Механізми розвитку ендотоксикозу в організмі цих дослідних тварин полягають у імуносупресії на фоні гіпоальбумінемії та гіпопротеїнемії, лейкоцитозу із еритроцитопенією на тлі надмірного утворення серомукоїдів.

У організмі тварин, що одержали одноразово наночастки Кобальту у дозах 1,00 і 0,50 мг/кг маси тіла, вищевказані прояви отруєння були менш

виражені або частково не виявлялись. Даний факт можна пояснити індукцією в організмі щурів даних дослідних груп адаптаційно-компенсаторних механізмів завдяки, очевидно, вивільненню ресурсів власних детоксикаційних систем та гемопоетичним впливом саме Кобальту.

За результатами проведення гострого експерименту на моделі лабораторних тварин можна також вказати, що дослідні наночастки Кобальту у дозах 0,10 і 0,05 мг/кг маси тіла мали високу біосумісність.

**Перспективи подальших досліджень.** Для визначення критичних точок впливу НчСо, що дозволить у певній мірі стверджувати про їх біотичну (адаптогенну) дію на організм тварин, наступним етапом буде вивчення біосумісності наночасток Со в умовно біотичній та умовно токсичній дозах за проведення хронічного токсикологічного експерименту на моделі білих щурів.

#### Література

1. Барановский А.Ю., Кондрашина Э.А. Дисбиоз кишечника. – СПб.: Питер, 2008. – 240 с.
2. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией// Журн. микробиол. – 2004. – № 1. – С. 84-92.
3. Бондаренко В.М., Грачева Н.М. Дисбиотические состояния и лечебные мероприятия при них// Вестн. РАМН. – 2005. – № 12. – С. 23-29.
4. Козько В.Н. Эубиоз, дисбактериоз, пробиотики// Лікування та діагностика. – 2001. – №2. – С. 21-27.
5. Николаева Т.Н., Зорина В.В., Бондаренко В.М. Иммуностимулирующая и антиканцерогенная активность нормальной лактофлоры кишечника// Эксперим. клин. гастроэнтерол. – 2004. – № 4. – С. 39-43.
6. Радчук, Н.А. Ветеринарная микробиология и иммунология/ Н.А. Радчук, Г.В. Дунаев, Н.М. Колычев. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 330–336.
7. Самуйленко А.Я. Инфекционная патология животных. В 2 т./ под ред. А.Я. Самуйленко [и др.]. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – Том II. – 807с.
8. Степашкина К.И. Клиническое толкование сдвигов белков крови/ К.И. Степашкина. – К.: Наукова думка, 1963. – 61 с.

Рецензент – д.вет.н., професор Гуфрій Д.Ф.